

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS**

LUANA RAPOSO DE MELO MORAES APS

**Novas fronteiras terapêuticas contra tumores causados pelo vírus
do papiloma humano (HPV): avaliação experimental da associação
da quimioterapia com estratégias vacinais**

São Paulo
2018

LUANA RAPOSO DE MELO MORAES APS

Novas fronteiras terapêuticas contra tumores causados pelo vírus do papiloma humano (HPV): avaliação experimental da associação da quimioterapia com estratégias vacinais

Versão original

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Microbiologia

Orientador: Prof. Dr. Luís Carlos de Souza Ferreira

Co-orientadora: Dr^a. Mariana de Oliveira Diniz

São Paulo
2018

RESUMO

APS, L. R. M. M. **Novas fronteiras terapêuticas contra tumores causados pelo vírus do papiloma humano (HPV): avaliação experimental da associação da quimioterapia com estratégias vacinais** [Tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas, 2018. 200 f.

O presente estudo teve como principal objetivo aprimorar os efeitos antitumorais de uma nova estratégia imunoterapêutica para controle de tumores induzidos pelo vírus do papiloma humano tipo 16 (HPV-16). Para tal finalidade foi utilizado um novo conceito de imunoterapia ativa, baseada em uma vacina de DNA recombinante, desenvolvida no Laboratório de Desenvolvimento de Vacinas da USP (pgDE7h) e diferentes abordagens experimentais delineadas com a finalidade de aumentar a eficácia terapêutica do tratamento. Desta forma, o presente trabalho focou no desenvolvimento de novos sistemas de entrega para a vacina de DNA empregando três nanocarregadores distintos, de natureza lipídica, proteica ou peptídica, e a avaliação da eficácia terapêutica desses frente a tumores pré-estabelecidos. O presente trabalho também avaliou a combinação da imunoterapia, baseada no vetor pgDE7h, com a quimioterapia, empregando o composto cisplatina, de forma a permitir o tratamento de tumores em estágios mais avançados de crescimento. Os resultados demonstram que a associação do plasmídeo vacinal com vesículas peptídicas mostrou-se capaz de ativar células dendríticas murinas *in vitro* e promover aumento na sobrevivência de animais frente ao modelo de tumores subcutâneos, sem induzir toxicidade. Quando combinada ao tratamento com cisplatina, a vacina, principalmente associada à eletroporação, demonstrou um efeito sinérgico, promovendo regressão total de tumores, aumento expressivo na ativação de linfócitos T CD8 E7-específicos, indução de resposta de memória efetora e memória residente e controle de populações imunossupressoras de forma sistêmica e no microambiente tumoral. Em resumo, a pesquisa ampliou os conhecimentos sobre a ação da imunoterapia ativa contra tumores induzidos por HPV e abriu perspectivas importantes para sua utilização em condições clínicas.

Palavras-chave: HPV. Vacina de DNA. Nanocarregadores. Cisplatina

ABSTRACT

APS, L. R. M. M. **New therapeutic frontiers against tumors caused by human papillomavirus (HPV): experimental evaluation of the association of chemotherapy with vaccine strategies** [Thesis]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas, 2018. 200 p.

The present study aimed to improve the antitumor effects of a new immunotherapeutic strategy for the control of tumors induced by human papillomavirus type 16 (HPV). For this purpose, a new concept of active immunotherapy based on a recombinant DNA vaccine developed at the Laboratory of Vaccine Development at USP (pgDE7h) was used, and different experimental approaches were designed to increase the therapeutic efficacy of the treatment. Thus, the present work focused on the development of new delivery systems for the DNA vaccine using three distinct nanocarregadores, of a lipid, protein or peptidic nature, and the evaluation of the therapeutic efficacy of these in front of pre-established tumors. The present study also evaluated the combination of pgDE7h-based immunotherapy with chemotherapy using the cisplatin compound to allow the treatment of tumors in more advanced stages of growth. The results demonstrate that the association of the peptide-vesicle vaccine plasmid was shown to activate murine dendritic cells *in vitro* and promote increased survival of animals against the subcutaneous tumor model without inducing toxicity. When combined with cisplatin treatment, the vaccine, mainly associated with electroporation, demonstrated a synergistic effect, promoting total tumor regression, expressive increase in the activation of CD8 E7-specific T lymphocytes, induction of effector and resident memory response and control of immunosuppressive populations in a systemic way and in the tumor microenvironment. In summary, the research expanded knowledge about the action of active immunotherapy against HPV-induced tumors and opened important perspectives for its use under clinical conditions.

Keywords: HPV. DNA vaccine. Nanocarriers. Cisplatin.